

Table 4 Thirteen cases with acute hepatitis E in our hospital from 2003 to 2012.

Case no.*	Sex	Age (yrs.)	Peak ALT (IU/L)	Peak T-Bil (mg/dl)	Lowest PT (%)	Year	Drug	Score***	History****
1	M	66	2699	6.0	91	2004	-	5	-
2	M	58	2791	8.7	87	2007	-	6	-
3	M	46	4722	12.0	58	2008	+	7	-
4	M	61	1560	1.4	(54)**	2009	+	9	-
5	M	67	2115	6.2	82	2010	+	8	-
6	M	66	6221	19.2	39	2011	-	7	-
7	M	63	456	0.6	93	2012	+	7	+
8	F	36	1154	0.7	87	2012	+	9	-
9	M	61	525	2.4	82	2012	+	6	-
10	M	68	375	1.7	93	2012	+	8	-
11	M	76	192	1.3	79	2012	+	6	-
12	M	77	516	1.0	105	2012	+	7	-
13	M	61	918	2.0	102	2012	+	6	-

*: Cases 3-5 correspond to cases 2-4 in the previous report by Okano et al.,¹⁷⁾ respectively, Cases 1-6 correspond to cases 1, 7 and 9-12 in the previous report by Nakano et al.,¹⁸⁾ respectively, and Cases 2-10, 12 and 13 correspond to cases 3, 5, 6, 8, 9, 11-14 and 17 in the previous report by Okano et al.¹⁹⁾ respectively.

** : The value indicates that tested during administration of warfarin.

*** : Scores by the diagnostic criteria of the workshop during Digestive Disease Week-Japan 2004 (DDW-J 2004) in patients with drug-induced liver injury if these 13 acute hepatitis cases are attributed to drug-induced liver injuries. Three cases (no. 1, 2 and 6) without a history of taking medicine were calculated as 0 point in the Item 1 of the DDW-J 2004 scoring scale.

**** : The eating histories of raw and/or undercooked swine liver, or deer or boar meat. The eight cases which might have been misdiagnosed as drug-induced liver injury if HEV screening was not conducted, are highlighted by shading.

Table 5 Comparison between HEV group and DILI group with regard to histories of eating raw meats and/or raw seafood (fish and/or shellfish).

Factor	HEV (n=13)	DILI (n=61)
Swine liver	0	0
Boar meat	1	0
Deer meat	0	0
Other raw meat	2 (horse)	3 (cow)
Sashimi and/or Sushi	11	27

The risk factors that are known to be associated with acute hepatitis E virus infection, are highlighted by shading.

事になった (Fig. 1).

次に、我々は、急性 E 型肝炎 13 例 (HEV 群) と DILI 61 例 (DILI 群) の両群間の患者の特徴を比較した (Table 6)。患者の年齢中央値は E 型肝炎例と DILI 例で、それぞれ 62 ± 11 歳、 57 ± 17 歳となり、両群間で有意差を認めなかった。また両群で 51 歳以上がそれぞれ 85%、

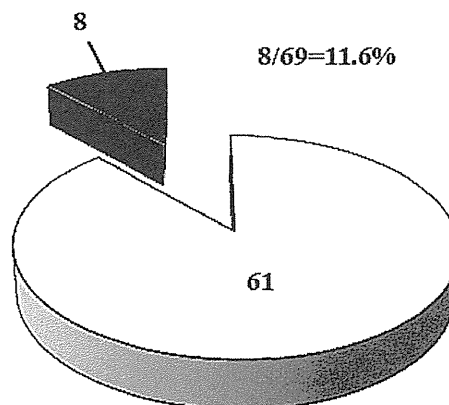
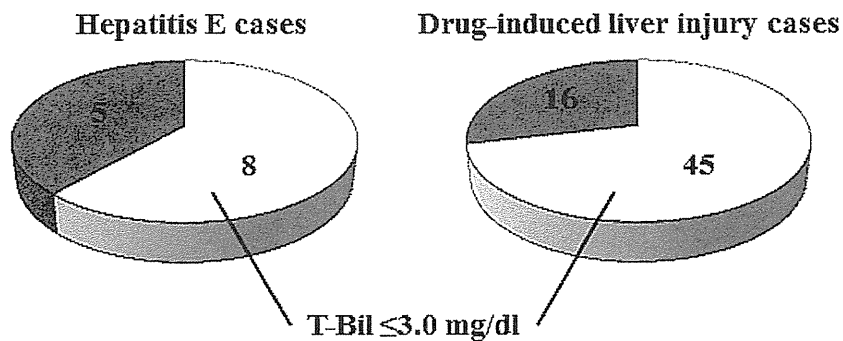


Fig. 1 Incidence of true diagnosed drug-induced liver injury (DILI) (white) and misdiagnosed DILI (black) in our hospital between 2004 and 2012. Based on hypothesis that we might misdiagnose as DILI for acute hepatitis E virus infection when we did not test for presence of hepatitis E virus infection, the number of misdiagnosed DILI were counted. As a result of calculation from our hypothesis, eight misdiagnosed DILI cases occupied 11.6% with all sixty-nine DILI cases (sixty-one true diagnosed DILI cases plus eight misdiagnosed DILI cases).

Table 6 Comparison of characteristics and laboratory data between the HEV group and DILI group

Factor	HEV group (n = 13)	DILI group (n = 61)	P value
Male/Female (No.)	12/1	35/26	0.020
Age (year)	62 ± 11	57 ± 17	0.980
Scoring (pts.)	7 ± 1.2	6.4 ± 1.2	0.110
Peak ALT (IU/L)	1864.9 ± 1845.4	632.8 ± 781.2	0.002
Peak ALP (IU/L) (DILI: n = 49)	799.6 ± 421.6	595.9 ± 494.9	0.009
Peak T-Bil (mg/dl)	4.9 ± 5.6	3.4 ± 6	0.080
Nadir PT (%) (HEV: n = 12, DILI: n = 56)	83.1 ± 18.4	81.5 ± 20.2	0.940

**Fig. 2** Incidence of no jaundice cases (white) and jaundice cases (gray) of both acute hepatitis E infection cases and drug-induced liver injury cases.**Table 7** Comparison of scoring between the HEV group and DILI hepatocellular type group

Factor	HEV group (n = 13)	DILI hepatocellular type group (n = 42)	P value
Scoring (pts.)	7 ± 1.2	6.6 ± 1.2	0.4

70% と多数例を占めた(データ提示なし)。患者の男女比、血液検査値(経過中の ALT 最高値、ALP 最高値、T-Bil 最高値及び PT 最低値)の比較では、HEV 群で、DILI 群に比して男性が多数を占め、ALT 最高値、ALP 最高値は DILI 群に比して高値を認めた。しかし T-Bil 最高値及び PT 最低値においては両群間に有意差を認めなかった。T-Bil 最高値においては、T-Bil 値 3.0 mg/dl 以下が HEV 群で 13 例中 8 例 (61.5%)、DILI 群が 61 例中 45 例 (73.4%) となり、両群とも顕性黄疸を呈さない、不顕性例が半数以上を占めた (Fig. 2)。

さらに両群で、現行の「薬物性肝障害スコアリングシステム」による点数差も検討したところ、HEV 群は全例 5 点以上のスコアとなり、平均値は 7 ± 1.2 点であった。一方 DILI 群は 6.4 ± 1.2 点となり、両群間に有意差は認められなかった (Table 6)。急性 E 型肝炎の肝障害パターンは肝細胞障害型の経過となることが多いため、DILI 群 61 例の内、肝細胞障害型 42 例で再度比較した時、DILI 群のスコア平均値は 6.6 ± 1.2 点となり、やはり HEV 群との有意差は認められなかった (Table 7)。

Table 8 Comparison of characteristics and laboratory data between the HEV group and DILI group

Factor	HEV group (n = 13)	DILI group* (n = 36)	P value
Male/Female (No.)	12/1	22/14	0.040
Age (year)	62 ± 11	63 ± 17	0.860
Scoring (pts.)	7 ± 1.2	6.8 ± 1	0.530
Peak ALT (IU/L)	1864.9 ± 1845.4	748.2 ± 955.6	0.001
Nadir PT (%) (HEV: 12, DILI: 32)	83.1 ± 18.4	81.7 ± 18.9	0.980
Peak ALP (IU/L) (HEV: 13, DILI: 34)	799.6 ± 421.6	651.9 ± 561.6	0.050
Peak T-Bil (mg/dl)	4.9 ± 5.6	3.8 ± 5.6	0.35

*: Only 36 cases with DILI that are found to be negative for HEV markers are included for comparison (see Table 1).

Table 9 Final scores in 13 cases with acute hepatitis E when HEV screening was included in the DILI scoring

Case no.	DILI score*
1	0
2	1
3	2
4	4
5	3
6	2
7	2
8	4
9	1
10	3
11	1
12	2
13	1

*: Calculated based on the DDW-J 2004 scoring scale.

これら両群間比較を行った際、DILI 群 61 例には、特に 2003 年から 2012 年の症例集計期間の内、早期の段階で集積された症例で、診断時点で E 型肝炎マーカーの測定が行われておらず、また保存血清もなく血清学的に E 型肝炎感染を除外出来ていない計 25 症例が含まれているため、血清学的に E 型肝炎感染の可能性が低く (IgM-HE, IgA-HE, HEV RNA のうち、測定した項目はすべて陰性)、DILI と診断した 36 例で再度 HEV 群 13 例との比較を行った (Table 8)。比較では、HEV

群の男女比と ALT 最高値の有意差は変わらなかったが、ALP 最高値は有意差が認められなくなった。スコアリングの点数比較では変わらず両群間で有意差を認めないままであった。

急性 E 型肝炎が確定した 13 例については、最終の「薬物性肝障害スコアリングシステム」によるスコアリング計算を行った (Table 9)。「項目 4」のカテゴリー 1, 2 の +2 が加えられず、薬物以外の原因が濃厚の -3 が加わり、各症例から減点された。急性 E 型肝炎 13 例中 9 例は 2 点以下となり、DILI の可能性は低い結果となったが、4 例は 3 点あるいは 4 点で DILI の可能性ありとなり、現行の「薬物性肝障害スコアリングシステム」では DILI 診断の可能性を残した。

考 察

今回の検討で、当院で発生した急性 E 型肝炎症例 13 例は、現行の「薬物性肝障害スコアリングシステム」では全例で DILI の可能性が高い 5 点以上のスコアとなった。発症時の内服歴の有無や、HEV 感染の risk factor とされている獣肉の喫食歴などから DILI 以外の可能性を考慮することが出来たと考えられる 5 例を除き、残りの 8 例は E 型肝炎マーカーを測定して急性 E 型肝炎の診断がなされるまで DILI との鑑別は困難であった。すなわち従来の概念で HEV 感染の可能性を考慮せず、E 型肝炎マーカーの測定を行わなければ、当院での DILI の 9 例に 1 例は E 型肝炎を誤って薬物性と誤診してしまった可能性がある。

本邦で HEV が流行している地域への渡航歴のない急

性肝障害患者で、イノシシ、鹿の肉や豚レバーの、生や調理不十分な状態での喫食歴を有する時は、E 型肝炎ウイルスの感染を強く疑うべきであるが^{20)~22)}、その一方、本邦で発生した急性 E 型肝炎症例の過半数は感染経路が不明である事に注意すべきである²¹⁾。当院の急性 E 型肝炎 13 例でも、喫食歴と遺伝子解析とからイノシシからの感染が推測された 1 例を除き、他の 12 例はいずれも、これまで感染源として考えられてきた畜肉の喫食歴はなく問診段階で HEV 感染を強く疑うことは困難であった。従って、海外渡航歴のない急性肝障害患者で、その喫食歴のみで HEV 感染を急性肝障害の原因から除外することは、E 型肝炎症例の見落としに繋がる可能性が考えられる。

我々の施設での HEV 群と DILI 群との比較では、HEV 群は男性が多く (男 : 女 = 12 : 1)、また ALT と ALP の経過中の最高値が HEV 群で高い傾向にあった。しかし T-Bil 最高値と PT 最低値は両群比較で有意差はなく、特に T-Bil 値は両群共に最高値が 3.0 mg/dl 以下の顕性黄疸を示さない例が 6-7 割と多数例となった。HEV 群に不顕性感染例が多数例となった背景には、以前に報告したように、我々の施設で発生した E 型肝炎症例の多くが遺伝子型 3 型であったことが関与している可能性がある^{17)~19)}。本邦で分離される土着型 E 型肝炎株の遺伝子型は、3 型がもっとも多く²³⁾、また 3 型に比して臨床経過が重症化しやすいとされる 4 型の E 型肝炎株が多く分離されている北海道でも、献血のスクリーニングで見つかる不顕性 E 型肝炎ウイルス感染例の 90% 以上が 3 型で占められており²⁴⁾、本邦の健康成人の 2% から 10% が過去の HEV 感染既往を示す IgG-HE 抗体を保有している事²⁵⁾などから、当院の HEV 群で認められたように、本邦での E 型肝炎の大部分は、遺伝子型 3 型の HEV 株による不顕性感染であることが予想される。

HEV 群と DILI 群とのスコアリングの点数比較でも両群間に有意差はなく、HEV 群は全例「可能性が高い」結果となった。今回、HEV 群でのスコアリングの計算は、薬物服用歴のない症例では、使用できる項目のみで計算を行った。このため実際に薬物服用歴があれば、使用しなかった「項目 1」、「項目 5」、「項目 7」、「項目 8」が加わり点数が変動する可能性がある。しかし臨床現場では偶然の再投与である「項目 8」に遭遇する可能性は少ないと思われるため、これらの症例では実際に薬物服用歴があれば「項目 1」、「項目 5」で点数は上積みされると思われる。なお実際に薬物服用歴があり薬

物性肝障害を疑った 8 例でのスコアリングの点数は 13 例でのスコアリングの点数をわずかに上回ったが、8 例群と 13 例群との間で有意差はなかった (データ提示なし)。また急性 E 型肝炎診断確定後の最終のスコアリング計算でも 4 例 (Case no. 4, 5, 8, 10) はスコアリングの点数が 3 点あるいは 4 点となり薬物性肝障害の可能性を残す結果となった。この 4 例は実際に薬物服用歴があり、E 型肝炎診断前には薬物性肝障害を疑っていた症例であった。これは、E 型肝炎マーカー測定系を採用していない現行の「薬物性肝障害スコアリングシステム」の限界を示すものかもしれない。

今回の検討に使用した、当院発症の DILI 61 症例では肝細胞障害型がもっとも多く、DILI 全体の 70% 弱を占めた。この結果は最近報告された全国集計と比較して、肝細胞障害型がやや多い傾向であった²⁶⁾²⁷⁾が、「DDW-J 2004 薬物性肝障害診断基準によるスコアリング」で、3 点以上の「可能性あり」は全薬物性肝障害例中 100% となり、5 点以上の「可能性が高い」では 93.4% で、全国集計と比して大きな差は認められなかった。また患者の分布についても、中央値は 57 才で、50 才以上の患者が多く、当院の DILI 症例の患者背景が全国集計の症例と大きく異なることはないと思われた。DILI 例には黄疸を呈さない、不顕性の症例が多数含まれる事も報告されており²⁸⁾²⁹⁾、この点についても不顕性の症例が DILI 症例の多数を占めた当院の結果と類似している。臨床現場では、無症状で一過性の肝胆道系酵素値の上昇のみで経過するような DILI 例は、肝臓専門医に相談されることなく経過していることも予想され、不顕性で経過する DILI 例は報告されている以上に多いことが推測される。このような症例は同様に不顕性感染の経過をたどる急性 E 型肝炎症例との区別は、臨床経過のみではなお困難であると思われる。

本邦で E 型肝炎の測定を行う場合、2013 年 9 月現在 commercial base で利用できる項目は、IgA-HE 抗体と HEV RNA である。HEV RNA は血中の RNA を直接検出する極めて有用な方法であるが、残念ながら現在保険収載されていない。一方 IgA-HE 抗体測定系は、2011 年 10 月 1 日より保険収載され臨床現場で利用が可能になっている。現在使用されている IgA-HE 抗体測定系は、従来使用されてきた IgM-HE 抗体測定系よりも感度、特異性ともに優れており¹⁶⁾³⁰⁾、臨床現場で E 型肝炎の診断に使用することに有用である。今回の症例すべてに HEV RNA、IgA-HE 抗体、IgM-HE 抗体の 3 つすべてを測定できていない。また、厳密に言えば IgM-HE

Table 10 The number of hepatitis A and hepatitis E cases reported during 2006-2013 in Japan annually

Year	Hepatitis A	Hepatitis E	Ratio (Hepatitis E/Hepatitis A)
2006	320	71	0.22
2007	157	56	0.36
2008	169	44	0.26
2009	115	56	0.49
2010	347	66	0.19
2011	176	61	0.35
2012	158	116	0.73
2013	127	126	0.99

This table was made in accordance with the Infectious Diseases Weekly Report (IDWR) surveillance data table of National Institute of Infectious Diseases web site (<http://www.nih.go.jp/niid/ja/from-idsc.html>).

抗体, IgA-HE 抗体も感度が 100% ではなく, 非特異反応が存在する. さらに HEV RNA は早期に陰性化するため完全に E 型肝炎と E 型肝炎でない群に分けるのは困難であり, 本報告で E 型肝炎を除外し DILI とした 36 例にもまだ E 型肝炎が混ざっている可能性について否定はできない. しかし実際には IgA-HE 抗体のみでかなり確実に診断でき, 今回の報告ではかなり正確に分けることができていると思われる.

現在特異的な検査が確立されていない DILI の診断において, 特に肝臓専門医以外の医師にとって, 現行の「DDW-J 2004 薬物性肝障害診断基準によるスコアリングシステム」は極めて重要な手段である. E 型肝炎は, 他のウイルス性肝炎と異なり現在除外診断を行う項目(カテゴリー 1)に入っておらず, 肝臓専門医の判断に委ねる形になっているが, 1) E 型肝炎感染を考慮しないまま現行の薬物性肝障害診断基準を使用し, DILI の診断を行った時, 約 1 割に E 型肝炎が含まれている可能性が示唆され, 無視出来ない数の誤診例が含まれること, 2) 国立感染研究所感染症疫学センター (<http://www.nih.go.jp/niid/ja/from-idsc.html>) の 2006 年以降に 4 類感染症として届け出された全国の E 型肝炎患者数と A 型肝炎患者数の年次別累計では (Table 10), 2006 年から 2011 年までの全国の E 型肝炎の届け出数は, 同じ年の A 型肝炎に比して 20%~30% 程度の届け出数であったが, IgA-HE 抗体測定系が保険適応となった 2011 年 11 月以降, 特に 2012 年以降 E 型肝炎の届け出数は急増し 2012 年は A 型肝炎の 73% にまで増加, さらに 2013 年は A 型肝炎届け出数 127 例に対して

E 型肝炎届け出数は 126 例となり, A 型肝炎と E 型肝炎の感染症例届出数症例数は, ほぼ同数となっている事, 3) E 型肝炎症例の多くは不顕性感染であり, その感染経路は多くの症例で特定出来ない事, 4) 感染地域への渡航, イノシシ肉, 鹿肉, 豚レバー喫食といった従来考えられてきた原因以外の感染経路の存在が考えられるため, E 型肝炎の測定を行わなければ E 型肝炎感染の除外は困難であることから, 現行の DILI 診断基準に IgA-HE 抗体測定系を加え, スコアリングシステムで E 型肝炎感染の除外を行う必要があると考えられる. 処方された薬物が利用出来ないことは患者にとっても不利益が生じる事である. DILI が疑われる事例において, HEV 感染が判明し DILI の可能性が否定され, 疑義の薬物が使用することが出来る可能性が高まる. 薬剤使用再開が可能となり, 患者の利益が損なわれない事は大変重要であると考えられる.

おわりに

我々の検討から, 現行の DILI 診断基準に IgA-HE 抗体測定系を加えることにより, E 型肝炎症例を DILI 例と誤診する可能性が少なくなり, より正確な DILI 診断に至る可能性が高くなると考えられた. E 型肝炎に対する IgA-HE 抗体測定系が保険収載され, また本邦の臨床現場から E 型肝炎症例の届出数が近年増加していることから, 「DDW-J 2004 薬物性肝障害診断基準によるスコアリング」に今後 IgA-HE 抗体測定を追加し, E 型肝炎除外診断を行う事を提案する. 薬物性肝障害診断スコアリングに E 型肝炎測定系が含まれていない現

時点でも、臨床現場で、特に DILI を疑う急性肝障害に遭遇された際には是非 IgA-HE 抗体を測定し E 型肝炎の除外診断を行って頂くことを切望する。

文 献

- 1) 滝川 一, 恩地森一, 高森頼雪, 他. DDW-J 2004 ワークショップ薬物性肝障害診断基準の提案. 肝臓 2005 ; 46 : 85—90
- 2) 渡辺真彰, 渋谷明隆, 三浦有紀子, 他. DDW-J2004 薬物性肝障害ワークショップのスコアリングに関する validity study. 肝臓 2007 ; 48 : 219—226
- 3) 滝川 一. 薬物性肝障害の診断基準. 肝臓 2007 ; 48 : 207—209
- 4) Takahashi K, Iwata K, Watanabe N, et al. Full-genome nucleotide sequence of a hepatitis E virus strain that may be indigenous to Japan. *Virology* 2001; 287: 9—12
- 5) Okamoto H, Takahashi M, Nishizawa T, et al. Analysis of the complete genome of indigenous swine hepatitis E virus isolated in Japan. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 289: 929—936
- 6) Takahashi M, Nishizawa T, Yoshikawa A, et al. Identification of two distinct genotypes of hepatitis E virus in a Japanese patient with acute hepatitis who had not travelled abroad. *J Gen Virol* 2002; 83: 1931—1940
- 7) Mizuo H, Suzuki K, Takikawa Y, et al. Polyphyletic strains of hepatitis E virus are responsible for sporadic cases of acute hepatitis in Japan. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 3209—3218
- 8) 岩室雅也, 川口光彦, 寺田 亮, 他. 薬物性肝障害との鑑別が問題となった E 型肝炎の 1 例. 肝臓 2005 ; 46 : 512—515
- 9) Dalton HR, Fellows HJ, Stableforth W, et al. The role of hepatitis E virus testing in drug-induced liver injury. *Aliment Pharmacol Ther* 2007; 26: 1429—1435
- 10) 石綿 翔, 高木 均, 星野 崇, 他. 薬物性肝障害との鑑別を要した E 型肝炎の 1 例. 日本消化器病学会雑誌 2012 ; 109 : 624—629
- 11) Haim-Boukoba S, Ferey MP, Vétillard AL, et al. Transfusion-transmitted hepatitis E in a misleading context of autoimmunity and drug-induced toxicity. *J Hepatol* 2012; 57: 1374—1378
- 12) Chen EY, Baum K, Collins W, et al. Hepatitis E masquerading as drug-induced liver injury. *Hepatol* 2012; 56: 2420—2423
- 13) Davern TJ. Drug-induced liver disease. *Clin Liver Dis* 2012; 16: 231—245
- 14) Davern TJ, Chalasani N, Fontana RJ, et al. Acute hepatitis E infection accounts for some cases of suspected drug-induced liver injury. *Gastroenterology* 2011; 141: 1665—1672
- 15) 川上万里, 久保木真, 梅川康弘, 他. 原因不確定の急性肝障害における Hepatitis E virus 感染の有無の検討. 肝臓 2009 ; 50 : 159—162
- 16) 岡本宏明. 新規に保険収載された検査法「IgA-HE 抗体価(定性)」. *モダンメディア* 2012 ; 58 : 12—17
- 17) 岡野 宏, 中野達徳, 松崎晋平, 他. 三重県内で発生した稀な 3 型(ヨーロッパ型) E 型肝炎ウイルスによる散発性急性肝炎の 4 症例. 肝臓 2011 ; 52 : 295—302
- 18) Nakano T, Okano H, Kobayashi M, et al. Molecular epidemiology and genetic history of European-type genotype 3 hepatitis E virus indigenized in the central region of Japan. *Infect Genet Evol* 2012; 7: 1524—1534
- 19) Okano H, Takahashi M, Isono Y, et al. Characterization of sporadic acute hepatitis E and comparison of hepatitis E virus genomes in acute hepatitis patients and pig liver sold as food in Mie, Japan. *Hepatol Res* 2013; 2013 Aug 8. doi: 10.1111/hepr.12216. [Epub ahead of print]
- 20) Okamoto H, Takahashi M, Nishizawa T. Features of hepatitis E virus infection in Japan. *Intern Med* 2003; 42: 1065—1071
- 21) 阿部敏紀, 相川達也, 赤羽賢浩, 他. 本邦に於ける E 型肝炎ウイルス感染の統計学的・疫学的・ウイルス学的特徴: 全国集計 254 例に基づく解析. 肝臓 2006 ; 47 : 384—391
- 22) 岡本宏明. 我が国に於ける E 型肝炎の現況. 肝臓 2006 ; 47 : 379—383
- 23) 岡本宏明. Hepatitis E Virus. 肝臓 2005 ; 46 : 491—497
- 24) 矢野公士, 玉田陽子, 八橋 弘. E 型肝炎の臨床. 日本消化器病学会雑誌 2009 ; 106 : 188—194
- 25) 岡本宏明. E 型肝炎をめぐる最近の知見—感染培養系の確立と応用も含めて—. 日本消化器病学会雑誌 2009 ; 106 : 177—187
- 26) 滝川 一, 向坂彰太郎, 相磯光彦, 他. 薬物性肝障害の最近の動向: 2002—2006 年の 366 例の検討.

- 肝臓 2007 ; 48 : 517—521
- 27) 滝川 一, 村田洋介, 村脇義和, 他. 座談会 薬物性肝障害をめぐって. 肝臓 2008 ; 49 : 537—548
- 28) 恩地森一, 滝川 一, 村田洋介, 他. 民間薬及び健康食品による薬物性肝障害の調査. 肝臓 2005 ; 46 : 142—148
- 29) 静間 徹, 小幡 裕, 橋本悦子, 他. 薬物性肝障害の臨床的検討. 肝臓 2002 ; 43 : 309—315
- 30) Takahashi M, Kusakai S, Mizuo H, et al. Simultaneous detection of immunoglobulin A (IgA) and IgM antibodies against hepatitis E virus (HEV) Is highly specific for diagnosis of acute HEV infection. J Clin Microbiol 2005; 43: 49—56
- 本論文内容に関連する著者の利益相反：なし

Screening of hepatitis E virus infection should be included in the current diagnostic scale for drug-induced liver injury in Japan

Hiroshi Okano^{1)*}, Tatsunori Nakano²⁾, Hiroaki Okamoto³⁾

We compared the clinical features and laboratory data of 13 cases with acute hepatitis E and 61 cases with drug-induced liver injury (DILI) in our hospital. Out of 13 hepatitis E cases, 12 had no history of eating or undercooked raw meat/viscera and remained unknown for the origin and route of hepatitis E virus (HEV) infection. More than half of acute hepatitis E and DILI did not exhibit jaundice during the clinical course. All 13 cases of acute hepatitis E had a high score of ≥ 5 points by the DDW-J 2004 scale. Without HEV screening, eight cases of acute hepatitis E might have been misdiagnosed as DILI. The DDW-J 2004 scoring scale, current diagnostic scale for DILI, cannot discriminate acute hepatitis E cases from DILI cases because the scoring scale has no support for HEV infection. We propose that HEV-IgA test should be included in the current diagnostic scale for drug-induced liver injury for differential diagnosis of acute HEV infection to provide more accurate diagnosis of DILI in Japan.

Key words: hepatitis E virus drug-induced liver injury DDW-J 2004 scoring scale

Kanzo 2014; 55: 325—334

1) Department of Gastroenterology, Suzuka General Hospital, Suzuka, Japan

2) Department of Internal Medicine, Fujita Health University Nanakuri Sanatorium, Tsu, Japan

3) Division of Virology, Department of Infection and Immunity, Jichi Medical School of Medicine, Shimotsuke, Japan

*Corresponding author: oohh1969@yahoo.co.jp

<原 著>

函館地区で発生した E 型急性肝炎に対する臨床的、
ウイルス学的、疫学的検討
—函館 4 病院における症例探索から—

梅村真知子^{1)2)*} 渡邊 豊²⁾ 小川 浩司³⁾ 山本 義也³⁾ 矢和田 敦⁴⁾
 榮浪 克也⁵⁾ 長佐古友和⁶⁾ 川村 直之⁶⁾ 工藤 峰生⁶⁾ 松林 桂二⁷⁾
 狩野 吉康⁸⁾⁹⁾ 姜 貞憲⁸⁾¹⁰⁾ 水尾 仁志⁸⁾¹¹⁾ 岡本 宏明⁸⁾¹²⁾ 高橋 和明⁸⁾¹³⁾
 安倍 夏生⁸⁾¹³⁾ 新井 雅裕⁸⁾¹³⁾ 三代 俊治⁸⁾¹³⁾

要旨：2007～10 年の 4 年間に、函館市内 4 病院で診療した 13 例、函館市内で感染し札幌で発症した 1 例の計 14 例の E 型肝炎ウイルス (HEV) 感染者を対象とし、E 型肝炎の臨床像、感染経路の解析およびウイルス遺伝子の系統解析を行った。道南地区における有症状の非 A 非 B 非 C 型急性肝炎のうち E 型の頻度は 24.2% であった。E 型肝炎 14 (男 8 : 女 6) 例中、4 (男 1 : 女 3) 例が重症化しそのうち 3 例は劇症肝炎を呈し 2 例は死亡した。

13 例から分離された HEV RNA ゲノムの ORF 1 326 塩基に対し遺伝子系統解析を行ったところ、3 株は genotype 3、10 株は genotype 4 に属した。genotype 4 の 7 株は既報の Kitami/Abashiri strain に、2 株は札幌圏小流行を起こした New Sapporo strain に属した。

患者の職業、食肉嗜好、居住地等は共通点に乏しかった。感染源として、従来から指摘されている動物の内臓肉に加え、生の貝類が疑われた。

索引用語： E型肝炎ウイルス 劇症肝炎 遺伝子系統解析
New Sapporo strain Kitami/Abashiri strain

はじめに

E 型急性肝炎は、本邦では 2003 年以降 4 類感染症と

され届け出が義務付けられているが、2011 年末に E 型肝炎ウイルス (HEV) 感染検査が保険収載されるまでは、感染実態の把握には困難を伴っていた。しかし、国立感染症研究所感染症発生動向調査週報によると、実臨床において HEV 感染診断が容易ではなかった 2011 年以前の期間も含む 1999 年 4 月から 2013 年 4 月までに 613 例が全国から報告されている。2006 年から 2011 年度において北海道内での報告症例数は 11-39 例/年であり、全国集計症例数に占めるその割合は、19.42% と、群を抜いて高い¹⁾。

函館市内には比較的大規模な医療施設が集中し、渡島地方の人口 43 万人をその医療圏としている²⁾。しかし、本医療圏における E 型肝炎の発生実態は不明のままであった。

北海道 E 型肝炎研究会 (道 E 研) では 2007 年の発足時より全道に協力施設を募り、全道的な HEV 感染実態の把握を試みた。道南地域に位置する函館市内 4 病院

- 1) 釧路労災病院消化器内科
- 2) 函館中央病院内科
- 3) 市立函館病院消化器病センター
- 4) 函館五稜郭病院消化器内科
- 5) 北海道社会事業協会函館病院内科消化器科
- 6) 札幌北楡病院消化器内科
- 7) 日本赤十字北海道ブロック血液センター
- 8) 北海道 E 型肝炎研究会
- 9) 札幌厚生病院第 3 消化器科
- 10) 手稲溪仁会病院消化器病センター
- 11) 勤医協中央病院内科
- 12) 自治医科大学感染・免疫学講座ウイルス学部門
- 13) 東芝病院研究部

*Corresponding author:

machiko_ume_17@yahoo.co.jp

<受付日 2014 年 2 月 18 日> <採択日 2014 年 4 月 23 日>

(計 2077 床) は、北海道 E 型肝炎研究会に発足当時より参加し、国内型 E 型肝炎症例の診療経験を蓄積してきた。

本論文では、2007～2010 年の 4 年間に函館市を中心とした医療圏で発生した国内型 E 型肝炎症例の臨床像、および原因ウイルスの遺伝子解析結果を検討し、道南における HEV 感染の実態解明を目的とした。

対象と方法

2007～2010 年の 4 年間に函館市内 4 病院で診療した非 A, B, C 型急性肝障害のうち、道 E 研を介して診断されたか、或は北海道ブロック赤十字血液センターにおける献血者 HEV スクリーニング陽性として紹介された HEV 感染例を対象とした。これらの患者背景、臨床像および HEV 感染リスク要因を検討した。

HEV 感染診断は、肝炎初期に採取した患者血清中の HEV ORF1 と ORF2 領域における RT-PCR 法による HEV RNA 同定³⁴⁾、または enzyme linked immune sorbent assay (ELISA) キット (特殊免疫研究所, 東京) による抗 HEV IgM, IgA, の検出に拠った。さらに、HEV genome open reading frame (ORF) 1 の methyl trans-

ferase 領域内 326 塩基に対する sequencing により遺伝子型を特定し、neighbor-joining method (NJ 法) によりウイルスの遺伝子系統解析を行った。HEV RNA 定量を Real time PCR 法で行った³⁾。

臨床病型では、PT 活性最低値が 40% 以下の急性肝炎を重症型急性肝炎と定義し、劇症肝炎は肝性昏睡を合併した重症型急性肝炎、通常型はそれ以外とした。

結 果

非 A, B, C 型急性肝障害における E 型肝炎の頻度

2007～2010 年の 4 年間に函館市内 4 施設で診療した非 A 非 B 非 C 型急性肝障害は 33 例であり、そのうち 8 例 (24.2%) が HEV 急性感染症と診断された。E 型肝炎の年次別症例数は、2007 年から順に 2, 0, 1, 5 例であり、非 A, B, C 型急性肝障害における E 型の年次別頻度は 0-50% であった (Fig. 1)。

HEV 感染診断根拠と HEV genotypes

上記 8 例に加え、そのうちの 1 例と函館市内で会食後に発症した急性肝炎 1 症例、および献血者 HEV スクリーニング陽性を契機に紹介され受診した 5 例の合計 14 例が HEV 感染症と診断された (Table 1)。

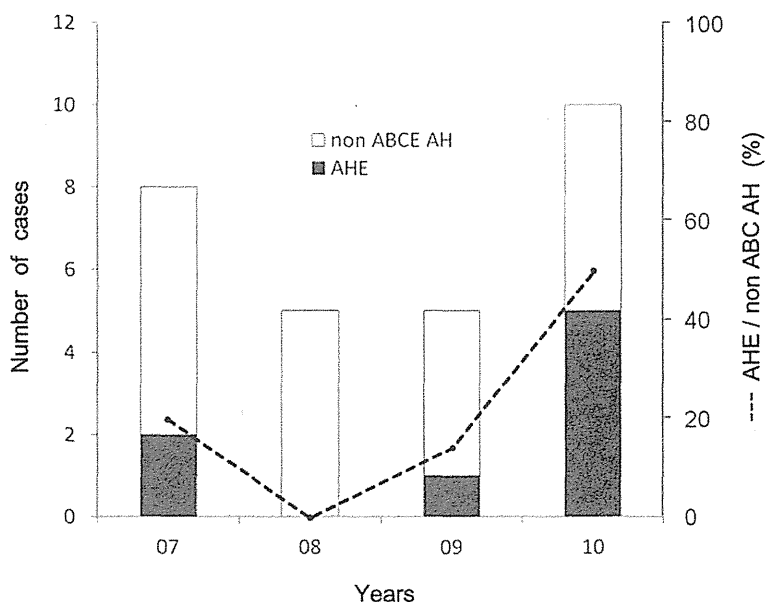


Fig. 1 Annual number of cases and frequencies of acute hepatitis E (AHE) among non A, non B, non C acute hepatitis (non ABC AH).

The numbers of patients with acute hepatitis E in four hospitals of Hakodate city were 0 to 6 per year. Dotted line indicates changes in the frequency of AHE in non ABC AH.

Table 1 Infection markers of hepatitis E virus in the cases of acute hepatitis E

Case No.	HEV Genotypes	HEV RNA by Nested PCR	isolated name of HEV	Quantified level of HEV RNA ^a (Log copies/ml)	Anti HEV		
					IgA	IgM	IgG
1	4	+	JSK-Hak07	n.t. ^b		+	+
2	3	+	HRC-HE103 (AB671039)	2.6		-	-
3	4	+	JMK-Hak07	4.8		-	-
4	not determined	-		n.t.	+	+	+
5	3	+	JSK-Hak08	3.2		-	-
6	4	+	JMS-Hak09R	4.6		-	-
7	4	+	JOM-Hak-FH09	n.t.	+	+	+
8	3	+	HRC-HE185	2.5		-	-
9	4	+	JFS-Hak10	5.8	+	+	+
10	4	+	JFI-Hak10	5.6	+	+	+
11	4	+	JHK-Hak10	5.5	+	+	+
12	4	+	JKO-HakSap10	3.3	+	+	+
13	4	+	JSO-Hak10	5.9	+	+	-
14	4	+	JKI-Hak10	n.t.	+	+	+

^a: serum HEV RNA was quantified by TaqMan PCR; ^b: not tested.

このうち 13 例では初期血清に対する PCR で HEV RNA が同定され, genotype が決定された。その内訳は genotype 4 が 10 例, 同 3 が 3 例であり, genotype 3 HEV が検出された 3 症例は, いずれも献血症例であった。1 例(症例 4)は HEV RNA 陰性であったが, IgM, IgA クラス HEV 抗体陽性から診断された。

IgM, IgG クラス HEV 抗体両者が 14 症例全例で検討され, それぞれ 9 例, 8 例で陽性であった。IgA クラス HEV 抗体は 8 例で検討され, 全例が陽性で, IgM クラス HEV 抗体との不一致例はなかった。献血者スクリーニングで HEV RNA 陽性を指摘された 5 例(症例 2, 3, 5, 6, 8)は, 献血時 IgM, IgG クラス HEV 抗体陰性であった。

遺伝子系統解析

PCR で同定された HEV RNA 13 株の ORF1 326 塩基における遺伝子系統解析結果を Fig. 2 に示す。13 株中 10 株が genotype 4 に属し, いずれも既報の Hokkaido strain に含まれた。なお, 症例 6 由来 JMS-Hak09R では ORF1 326 塩基が増幅されなかったが, ORF1 821 nt にて増幅され, 症例 7 から分離された JM-Hak-FH09 と ORF1 821 塩基において 100% 一致を認めた。Genotype 4 の 10 株中 7 株は 2004 年北見, 2006 年網走でそれぞれ集団感染を起こした Kitami/Abashiri strain に属しており^{6)~8)}, 残る 3 株のうち 2 株は 2009 年に札幌圏

で小流行を起こした New Sapporo strain に⁹⁾¹⁰⁾, 1 株は 1995-2009 年に札幌で多数同定された Sapporo strain に属した。症例 2, 5, 8 は genotype 3 に属したが, 3 株間に高い相同性は認められなかった。

患者背景

E 型肝炎 14 症例のうち男性は 8 名, 女性 6 名であり, 年齢中央値 52.7 歳であった (Table 2, 3)。11 名は函館市内に居住するも住所に一致を認めなかった。14 例中, 推定される HEV 感染期間に札幌ないし道東へ旅行した患者は, 後述する症例 12 以外いなかった。職業は会社事務職 4 例, 主婦 2 例で, 畜産, 食品加工, 調理等に従事する患者はいなかった。既往歴は糖尿病, 高血圧, 関節リウマチ, 脂肪肝各 1 例であった。4 例で日常的な飲酒を認めたが, そのうち常習飲酒家は症例 3 (純エタノール換算 72 g/day, 5 年以上) のみであった。診断契機は, 急性肝炎の症状発現による受診が 7 例で, 献血時 HEV 陽性による紹介が 5 例であった。他, 職場 (医療施設) での針刺し事故を契機に偶然肝機能障害を指摘された 1 例(症例 4), HEV 感染症例と会食歴を有したためスクリーニングが行われた 1 例 (症例 14) であった。

検査成績, 臨床経過と転帰

14 例の臨床経過と検査成績を Table 3, 4 に示す。ALT 最高値は中央値 1777 (47-6490) IU/l, T-bil 最高値は同

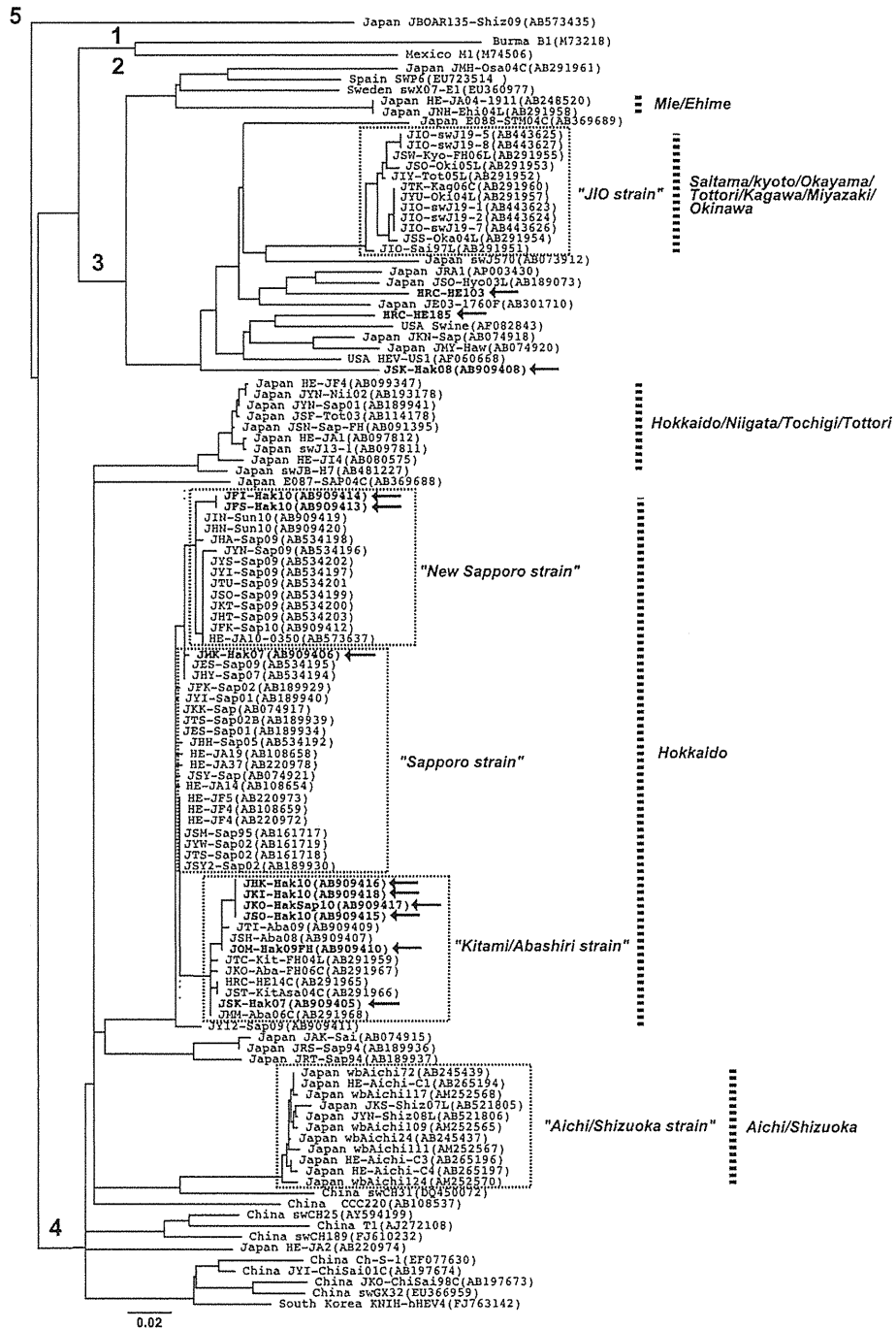


Fig. 2 Phylogenetic tree was constructed based on 326 nt sequence in open reading frame (ORF) 1 of HEV genotype 4 by neighbor-joining method. Two isolates, JFI-Hak10, JFS-Hak10, analyzed in the current study were segregated into New Sapporo strain, and 6 isolates, JSK-Hak07, JMK-Hak07, JHK-Hak10, JKI-Hak10, JKO-HakSap10, JSO-Hak10, were segregated into Kitami Abashiri/Hakodate strains. The strain isolated from case 6, JMS-Hak09R, was not amplified for 326 nt in ORF1, but amplified in 821 nt in ORF1, therefore, JMS-Hak09R was not described here.

Table 2 Back ground of the patients with acute infection of hepatitis E virus

Number of Patients, n	14
Number of male patients, n (%)	8 (57.1)
Median age, years (range)	55.5 (28-73)
Place of residence, n (%)	
Hakodate City	11 (78.6)
N county	1 (7.1)
Y county	1 (7.1)
Sapporo City	1 (7.1)
Occupation, n (%)	
Office worker	4 (28.6)
House wife	2 (14.3)
Clerk of general store	1 (7.1)
Care worker	1 (7.1)
Sanitation worker in hospital	1 (7.1)
Taxi driver	1 (7.1)
Unknown	2 (14.3)
Habitual alcohol intake ^a , n (%)	1 (7.1)
Pre-Existing conditions, n (%)	
Diabetes mellitus	1 (7.1)
Hypertension	1 (7.1)
Rheumatoid arthritis	1 (7.1)
Fatty liver	1 (7.1)
History of overseas travel, n	none
Medicine intake, n (%)	3 (21.4)
Health foods intake (%)	none

^a: habitual intake of alcohol was defined as the consumption of 70 g/day or more ethanol over 5 years.

じく 1.8 (0.5-4.4) mg/dl, プロトロンビン活性最低値は 75.7 (15-105) %, PT INR 最高値は 1.17 (0.92-4.97) であった (Table 4a). 臨床病型は, 通常型が 10 例, 重症型 1 例, 劇症型 3 例 (急性型 1 例, 亜急性型 2 例) であった (Table 3). 通常型のうち 4 例は経過観察のみで自然軽快し, 6 例は補液等の保存的加療で改善した. 献血時 HEV RNA 陽性, IgM, IgG クラス HEV 抗体陰性であった 5 例 (症例 2, 3, 5, 6, 8) は, 経過観察中に全例で通常型急性肝炎を発症した. 経過中, IgM クラス HEV 抗体の陽性化を 3 例 (症例 3, 5, 6) で, IgG クラス HEV 抗体の陽性化を全例で認めた. 重症型および劇症型では, methylprednisolone, cyclosporine A の投与による免疫抑制療法が行われ, 肝性昏睡合併例では高流量 CHF が施行された. 劇症肝炎亜急性型 2 例 (症例 7, 9) は死亡した. 14 例の入院期間は中央値 21.5 日 (12-51 日) であった.

HEV genotype 別の生化学検査, HEV RNA 量の比較
病初期に採取した血清を用いた HEV RNA 定量は 10 株で可能であり, 平均 3.9 ± 1.6 Log copies/ml であった (Table 1). genotype 3 の 3 株では平均 2.5 ± 0.2 Log copies/ml, genotype 4 が同定された 7 株では平均 4.5 ± 1.5 Log copies/ml で両者には有意差 ($p < 0.05$) を認めた (Table 4b). genotype 4 感染による 7 例では ALT, AST の最高値が genotype 3 感染例に比べ高いか或は高い傾向を示した.

HEV 感染リスクと感染経路の検討

会食歴調査により発端患者 2 例 (症例 11, 13) とその会食者 2 例 (症例 12, 14) で HEV 感染経路を検討し得た (Table 5).

症例 11 は函館市在住の 44 歳営業職男性で, ブタ等の内臓肉や生の魚介類の摂取頻度が高く, 発症前 2-8 週間に会食歴のある人物の全数把握は困難であったが, 妻 (会食者 1), 元同僚である札幌市在住の男性 (会食者 2) の検討が可能であった. 会食者 2 は症例 11 の発症 25 日前 (2010 年 5 月 19 日) に函館市内の焼鳥屋で会食し, 共に生貝類 (ツブ貝, ホッキ貝等), 動物種不明レバー等を摂取した.

会食者 2 は症例 11 の入院日 (6 月 14 日) と同日に 38 度台の発熱と黄疸を主訴に札幌市内の北楡病院を受診し, 急性肝炎の診断で入院した. 当該病院では道 E 研を介して HEV 感染指標が検討され, HEV RNA 陽性, IgM, IgA クラス HEV 抗体陽性が判明した. 会食者 2 (症例 12) は推定感染時期にこの会食以外には函館市内で飲食をしておらず, また, 同期間における札幌市内でのレバー等内臓肉の摂食はなかった. 症例 11 と症例 12 から同定された HEV 株 (JHK-Hak10, JKO-HakSap10) は何れも genotype 4 に属し, ORF1 326 塩基における配列は 100% 一致したため (Fig. 2), 函館市内における会食が感染契機と診断し, ツブ貝, ホッキ貝, 動物種不明レバーの何れかが感染源と考えられた (Table 5a).

症例 13 と会食歴のある人物を調査したところ, 夫 (会食者 3), 娘 (会食者 4), 同僚男性 (会食者 5) が該当した. この 3 名について各々症例 13 の入院当日, 1 日後, 9 日後に血液検査を施行したところ, 会食者 5 (症例 14) のみ ALT 49 IU/L と軽度の肝機能異常を認め, HEV RNA 陽性, IgM, IgA, IgG クラス HEV 抗体陽性が判明した. 症例 13 と 14 から同定された HEV 株 (JSO-Hak10, JKI-Hak10) は共に genotype 4 に属し, ORF1 326 塩基が 100% 一致した (Table 5b, Fig. 2).

Table 3 Clinical features and outcomes of patients with acute hepatitis E

Case No.	Gender/ Age	Opportunity of diagnosis	Date of initial visiting	Category of Disease	Treatment	Duration of Hospitalization (days)	Out- come
1	F/47	Fatigue	Aug-07	Self limited	Conservative	12	Alive
2	M/57	Blood donation ^a	Oct-07	Self limited	Conservative	0	Alive
3	M/54	Blood donation	Nov-07	Self limited	Conservative	45	Alive
4	F/57	Needle stick accident ^b	Dec-07	Self limited	Conservative	0	Alive
5	M/33	Blood donation	May-08	Self limited	Observation	0	Alive
6	F/59	Blood donation	Mar-09	Self limited	Observation	0	Alive
7	M/60	Fatigue	Mar-09	FH, subacute	High flow CHDF	23	Dead
8	M/63	Blood donation	Dec-09	Self limited	Observation	0	Alive
9	F/73	Jaundice	Apr-10	FH, subacute	mPSL, CsA	51	Dead
10	F/63	Jaundice, delirium	Apr-10	FH, acute	mPSL	20	Alive
11	M/54	Fever, fatigue	Jun-10	Self limited	Conservative	15	Alive
12	M/38	Fever, appetite loss	Jun-10	Self limited	Conservative	12	Alive
13	F/53	Fever, exanthema	Jun-14	ASH	mPSL, CsA	32	Alive
14	M/28	Dined with index patient	Jun-21	Self limited	Observation	0	Alive

^a: Detection of HEV RNA in the screening for blood donation in Hokkaido Red Cross Blood Center. ^b: Abnormal liver function in the screening for a medical staff who had needle stick accident. FH; Fulminant hepatitis. ASH; Acute severe hepatitis, defined to show lowest prothrombin time index below 40%. CHDF; Continuous hemodiafiltration. mPSL; methylprednisolone pulsed therapy. CsA; Cyclosporine A.

この2名は、症例13の発症24日前(2010年5月21日)に函館市内の居酒屋で会食し、生の魚介類(マグロ、ツブ貝、ホヤ貝、ホッキ貝、ホタテ貝等)、動物種不明レバーの串焼きをほぼ同量ずつ摂取していた。症例14はこの会食日以外に函館市内で飲食をしておらず、豚内臓肉や魚介類も普段は全く摂取していなかった。症例13は6月14日に発症しその後急性肝炎重症型を呈したが、症例14は6月13日から1週間微熱、倦怠感等を自覚したのみであった(Table 3)。

共通する感染契機が特定された症例11, 12及び症例13, 14の2組より同定された4株(JHK-Hak10, JKO-HakSap10, JSO-Hak10, JKI-Hak10)はORF1 326塩基及び821塩基の配列について完全に一致した(Fig. 2)。

以上の会食者2組間の接触はなく、会食した飲食店は函館市内の異なる地区にあった。これらの結果をもとに函館市保健所による飲食店への聞き取り調査が行われたが、いずれの飲食店においても四足獣のレバー、レバー以外のブタ内臓肉ともに全く取り扱っていないと回答しており、汚染食品の特定には至らなかった。

Table 6に調査対象14例の潜伏期間(2-8週)における内臓肉及び魚介類摂取の有無を示す。全体の半数にあたる7例が動物の内臓肉を摂取していたが、そのうち6例では生の貝の摂取歴も存在した。豚内臓肉の摂

取歴がある7例中3例(21.4%)は豚ホルモン、豚レバーを加熱して摂取し、残る4例(28.6%, 症例11-14)は、会食者間で内臓肉の動物種について記憶に相違を認められた。魚介類を摂取した6例では、全例が貝類を摂取し、うち4例はツブ貝とホッキ貝の両方を生食していた。

豚内臓肉・魚介類等のいずれも摂取する習慣がないのは4例(症例1, 9, 10, 14)であったが、症例14は同13との会食で喫食歴を確認したため潜伏期間中にこれらの摂取歴の全くなかった症例は3例(21.4%)であった。

検索対象14例のうち、聴取が可能であった6例では、食料品を購入する商店および普段外食をする飲食店に重複はなかった。

考 案

函館では、2007年以降の4年間に受診した非A, B, C型急性肝炎患者におけるE型の頻度は24.2%(8/33)であった。Yanoらは2002年から2008年までにNational Hospital Acute Hepatitis Study Groupにより集積された非A, B, C型急性肝炎228例中E型急性肝炎は25例(11.0%)と報告しており¹¹⁾、函館におけるその頻度は全国集計の倍に相当する。また、道南地区で感染したと推測されるE型肝炎14例中女性は6例で、男女比

Table 4a Laboratory data in the patients with acute hepatitis E

Case No.	AST (IU/L)		ALT (IU/L)		Total bilirubin (mg/dl)		Peak PT INR	Lowest PT (%)
	Initial visit	Peak	Initial visit	Peak	Initial visit	Peak		
1	5570	5570	3627	3627	0.6	0.7	1.22	78.3
2	27	145	31	129	0.5	0.5	1.07	96.1
3	574	2326	573	3366	2.9	19.5	1.68	54.0
4	461	461	630	630	0.4	0.5	0.92	>100
5	22	22	47	47	0.9	1.1	1.07	n.t.
6	39	39	155	155	0.8	1.1	n.t.	n.t.
7	1145	2109	1652	2259	6.6	23.2	4.97	15.0
8	31	31	56	56	0.7	0.7	n.t.	n.t.
9	588	588	1254	1254	11.9	44.4	2.55	34.4
10	1196	3750	2997	4430	9.7	9.7	1.96	36.4
11	6266	6266	5230	5230	0.8	2.5	1.12	81.4
12	1579	1579	3788	3788	3.2	3.2	1.12	75.7
13	4961	8278	3935	6490	3.3	4.0	2.15	30.2
14	22	22	49	49	0.7	0.7	0.97	105.6

^a: not tested.

Table 4b Different clinical features in acute hepatitis E by genotype 3 or 4 of hepatitis E virus

	AST [§] , IU/L	ALT [§] , IU/L	T bil, [§] mg/dl	PT [§] , %	PT INR [§]	HEV RNA [§] Log copies/ml	No. of ALF ^{§§}
HEV Gt 3 (n = 3)	26.7 ± 3.7	44.7 ± 10.3	0.7 ± 0.2	96.1 ± 0	10.7 ± 0	2.5 ± 0.2	0
HEV Gt 4 (n = 7)	2194 ± 2295.1	2326 ± 1728.5	4.05 ± 3.8	70.3 ± 18.6	1.3 ± 0.3	4.5 ± 1.5	3
P-value ^b	0.08	0.03	0.1	n.s. ^h	n.s.	0.04	n.s.

Abbreviations: Gt; genotype, PT; prothrombin time, INR; international ratio, ALF; acute liver failure.

[§]: mean ± standard deviation were noted for their peak level in AST, ALT, total bilirubin, PT INR and HEV RNA.

[¶]: mean ± standard deviation were noted for their nadir level in prothrombin time.

^{§§}: acute liver failure was defined to be PT ≤ 40% or PT INR ≥ 1.5.

^b: by Student's U-test

^h: not significant

3.4 : 1 とする既報¹²⁾と比較し性比は 1.3 : 1 と縮小していた。極端な性比がみられず女性例が多い分、症例数が増加し頻度も上昇したと思われるが、その背景には本州とは異なり、日常的な食生活の中で女性にも HEV に感染する機会が存在することが推測され、後述する感染経路の解明が重要と考える。

本研究では 14 例中 10 例で初診時血清中の HEV RNA を定量した。genotype 3 は 3 例中 2 例で献血時スクリーニングの際 ALT 最高値を示しその後無症状で経過したが、genotype 4 では 10 例中 9 例が肝炎を発症し受診していた。感染診断時の血清における比較では、genotype 3 に対し genotype 4 で ALT が有意に高く AST も高い傾向を認め、このことは阿部らの報告に合致した¹²⁾。一般的に genotype 3 感染では不顕性感染が多く、

それに対して genotype 4 は急性肝炎発症例が多いと推測されるが¹²⁾、本研究では症例数は少ないものの同様の傾向を示した。本研究では、HEV genotype 4 感染例では、genotype 3 に比べ病初期の RNA 量が高いことが示された。genotype 4 HEV は、潜伏期間中のウイルス増幅が genotype 3 に比較し亢進し、宿主の免疫応答がより強く発現するため、より重い肝炎を発症する可能性が示唆された。自験例では症例数が少なく、病初期血液採取時期も一定ではなく、対象に献血時検査陽性例も含む為、これらの背景が揃った血清を用いて genotype 別の HEV 増殖性と肝炎重症度の関係をさらに検討する必要がある。

本研究では HEV RNA 陽性、IgM クラス HEV 抗体陰性症例が 14 例中 5 例あり、HEV RNA 陽性患者での

Table 5 Retrospective search for HEV infection in the individuals who dined with the index patients with acute hepatitis E

a) Assessment of liver function and the serum markers of HEV infection in the individuals who dined with case 11

The individuals dined with case 11 ^a	Age of years	Gender	Association with case 11	Place of residence	Duration from dining to onset ^b (days)	Duration from onset to blood sampling ^c (days)	ALT (IU/L)	Infection markers of HEV			
								RNA	IgM	IgA	IgG
Attendant 1	37	F	Wife	Hakodate city	not determined ^d	0	13	-	-	-	-
Attendant 2, (case 12 ^e)	38	M	Former co-worker	Sapporo city	28	0	3788	+	+	+	+

^a: The index patient, case 11, dined in Hakodate city.^b: Duration from the dining with attendant 1 or 2 until the onset of hepatitis in the index patient, Case 11.^c: Duration from onset of hepatitis in the index patient, Case 11, to the blood sampling in Attendant 1 or 2.^d: Attendant 1 often had the opportunities of dining together with the index patient, case 11.^e: Attendant 2, case 12, dined with Case 11 in Hakodate and was diagnosed as hepatitis E in Sapporo, on the same day when Case 11 was diagnosed in Hakodate.

b) Assessment of liver function and the serum markers of HEV infection in the individuals who dined with case 13

The individuals dined with case 13 ^a	Age of years	Gender	Association with case 13	Place of residence	Duration from dining to onset ^b (days)	Duration from onset to blood sampling ^c (days)	ALT (IU/L)	Serum markers of HEV infection			
								RNA	IgM	IgA	IgG
Attendant 3	55	M	Husband	N county	not determined ^d	0	13	-	-	-	-
Attendant 4	28	F	Daughter	Hakodate city	21	1	11	-	-	-	-
Attendant 5, (case 14 ^e)	28	M	Co-worker	Y county	24	9	49	+	+	+	+

^a: The index patient, case 13, dined in N county.^b: Duration from the dining with Attendant 3, 4 and 5, Case 14, until the onset of hepatitis in the index patient, Case 13.^c: Duration from onset of hepatitis in the index patient, Case 13, to the blood sampling in Attendant 3, 4 and 5, Case 14.^d: Attendant 3 often had the opportunities of dining together with the index patient.**Table 6** Number of patients having the ingestion history of offals^a, raw fish or shellfish at 2-8 weeks prior to the onset of hepatitis E.

		Ingestion history of pork or unknown origin of offals, no. of patients (%)		
		Yes ^c	No	Unknown ^a
Ingestion history of raw fish or shellfish no. of patients (%)	Yes	6 (42.9)		
	No		4 (28.6)	
	Unknown ^b	1 (7.1)		3 (21.4)

^a: offals were defined as large intestine, rectum and liver of pig or cow.^b: the patient did not fulfilled the answer for the question of dietary history.^c: out of 7 patients who ingested offals, 3 (21.4%) had intake pork offals.

IgM クラス HEV 抗体陽性率が 97.5% であったとする報告と乖離を認めた¹³⁾. IgM 抗体陰性はいずれも献血時 HEV RNA 陽性時の成績であり, その後の経過中に IgM ないし IgG クラス HEV 抗体が陽転しており, HEV

感染早期の IgM 抗体のウィンドウ期を捉えていたものと考えられた.

北海道は日本国内において HEV 高浸淫地域とみなされているが, 豚内臓肉喫食で伝搬した genotype 4 株に

よる集団感染事例が北見 (2004 年)、網走 (2006 年) から報告されている^{7,8)}。地理的に隣接する北見、網走市で2年を経て集団発生を起こした Kitami/Abashiri strain は、地域内に循環し HEV 感染を発生させたと推測される⁷⁾。2009 年秋には genotype 4 の同一系統株による札幌圏の E 型肝炎小流行が発生したが、遺伝子系統解析では既報の HEV 株とは異なる New Sapporo strain の感染によると報告された^{9,10)}。これらの分子疫学的事実から、ある地域に同一株の E 型肝炎が一定数発生する場合、この地域内で循環する同一系統 HEV 株が関与する可能性が示唆される。

4 年間に道南地区で診断した HEV genotype 4 感染 10 症例からは、系統解析で異なった cluster を形成する Kitami/Abashiri strain 7 株、New Sapporo strain 2 株が同定された。Kitami/Abashiri strain により、2007 年に症例 1 (JSK-Hak07)、2009 年には症例 6、7 (JMS-Hak09R、JOM-Hak-FH09⁴⁾)、3 年後の 2010 年には症例 11-14 (JHK-Hak10、JKI-Hak10、JKO-HakSap10、JSO-Hak10) がそれぞれ発症した。また、New Sapporo strain (JFS-Hak10、JFI-Hak10^{15,16)}) により症例 9、10 の 2 症例が発生している (Table 1, 3, Fig. 2)。

函館地区から札幌、北見はそれぞれおよそ 300 km、600 km 遠隔であるが、北海道から本州に至るより広域でのウイルスの拡散を報告した既報に留意すると、HEV に汚染された生鮮食品が全道規模で流通した結果、函館地区でも複数の感染者を発生させたと推測することは可能である⁷⁾。他方、これまで北見・網走、札幌で観察された地域限定的な HEV 感染の知見からは、函館近隣地域に Kitami/Abashiri strain や New Sapporo strain で汚染された感染源が恒常的に存在し、汚染食材が道南で流通している可能性も排除できない。函館医療圏で複数系統の HEV genotype 4 株が存在し、一系統株の感染が反復した事実は、日本国内型 HEV 感染の実態を把握する上で重要な示唆を含むと考えられる。

阿部らの全国集計に拠ると HEV 感染が豚などの食肉に関連すると推測される症例は全体の半数以下であり感染経路には不明な点が多い¹²⁾。道南地区の E 型肝炎では全例で輸血歴あるいは畜産、食肉販売、調理などの職業歴はなく、感染源は摂取された食物にほぼ限定できた。潜伏期間中に豚もしくは動物種不明内臓肉の摂取歴があると回答したのは 7 例と半数を占めたが、6 例が同時期に生の魚介類摂取歴も有しており、そのうち 5 例では生の貝類の摂取を認めた点は注目に値する (Table 6)。

石田らは、全道で豚・エゾジカの肝臓計 468 検体、処理前下水・処理後下水・海水・河川水・牡蠣等を含む 954 検体を収集し、HEV 株の分離同定を行った¹⁸⁾。その結果、豚肝臓 390 検体中 4 検体、海水 37 検体中 1 検体、処理前下水 1 検体より HEV 株を分離した。海水、処理前下水より分離された genotype 3 HEV 株は、同時期にヒト血清から分離された 3 株と部分塩基配列で 99.7-100%、1 株とは 93-94% の相同性を示した。HEV が分離された環境水検体からは同時にノロウイルスも検出されており、HEV 感染状態にあるヒトもしくは動物により水系環境の HEV 汚染が引き起こされている可能性が示唆された¹⁸⁾。国産ヤマトシジミから HEV が分離された事実を考え合わせると¹⁹⁾、今後道内沿岸部で水揚げされた貝類における HEV 汚染の実態が確認される可能性は低くないと考えられる。

生の貝類は道内では比較的安価で、男女を問わず広く生食が好まれるため生産地に近い地域で消費される傾向がある。本研究の事例では貝類の生食と HEV 感染との関連は不明であったが、貝類が有する HEV 感染源としての可能性について今後検討する必要があると考えられる。

食物自給率 191% (カロリーベース、平成 23 年度概算値) を誇り²⁰⁾、多くの食肉・水産加工品を道外に供給している北海道で HEV 浸透度が高いことは看過できない事実である。しかし風評被害を恐れるあまり精査を疎かにするきらいがないとは言えず、また 2011 年後半まで E 型肝炎の診断法が保険収載されていなかったことが障壁となり、未だ HEV 感染経路を解明するには至っていない。迅速な診断は勿論のこと、詳細な疫学研究を行うための各医療機関、研究施設と行政機関の連携が感染予防対策を考える上で重要である。

結 語

道南地域を医療圏とする函館市内 4 病院では 4 年間に 3 例の劇症例を含む 14 例の E 型急性肝炎を経験した。既報に比して症例の男女比は小さく、感染 HEV の genotype は 3、4 であったが、4 では複数系統の HEV 株が発症に関与し、そのうち Kitami/Abashiri strain は 3 年間にわたり断続的に繰り返して 7 症例を発生させていた。HEV 感染経路は不明であるが豚など既報の食肉経路に加え生の貝類摂取に対し注目する必要があると考えられた。

謝辞：本論文中の遺伝子系統樹で示された genotype 4

HEV 株のうち, JIN-Sun10 (AB909419), JHN-Sun10 (AB909420) は, 砂川市立病院内科吉田行範先生が北海道 E 型肝炎研究会に登録された E 型肝炎症例から分離同定された事実をここに記し, 本論文に対するご協力に対し, この場を借りて深く御礼申し上げます.

文 献

- 1) 国立感染症研究所感染症疫学センター; 感染症発生動向調査週報 <http://www.nih.go.jp/niid/ja/from-idsc.html>
- 2) 平成 22 年度国勢調査
- 3) Takahashi K, Kang JH, Ohnishi S, et al. Genetic heterogeneity of hepatitis E virus recovered from Japanese patients with acute sporadic hepatitis. *J Infect Dis* 2002; 185: 1342—1345
- 4) Mizuo H, Suzuki K, Takikawa Y, et al. Polyphyletic strains of hepatitis E virus are responsible for sporadic cases of acute hepatitis in Japan. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 3209—3218
- 5) Jothikumar N, Cromeans TL, Robertson BH, et al. A broadly reactive one-step real-time RT-PCR assay for rapid and sensitive detection of hepatitis E virus. *J Virol Methods* 2006; 131: 65—71
- 6) 加藤 将, 種市幸二, 松林圭二. 焼き肉店での会食後に発生した E 型肝炎ウイルス集団感染: うち 1 例は劇症肝炎で死亡. *肝臓* 2004; 45: 688
- 7) Matsubayashi K, Kang JH, Sakata H, et al. A case of transfusion-transmitted hepatitis E caused by blood from a donor infected with hepatitis E virus via zoonotic food-borne route. *Transfusion* 2008; 48: 1368—1375
- 8) Miyashita K, Kang JH, Saga A, et al. Three cases of acute or fulminant hepatitis E caused by ingestion of pork meat and entrails in Hokkaido, Japan: Zoonotic food-borne transmission of hepatitis E virus and public health concerns. *Hepatol Res* 2012; 42: 870—878
- 9) 姜 貞憲, 松居剛志, 佐賀啓良, 他. Genotype 4 単一系統株による札幌圏内 E 型肝炎小流行. *肝臓* 2010; 51: 51—53
- 10) 小関 至, 姜 貞憲, 水尾仁志, 他. 2009 年秋に札幌圏で発生した E 型肝炎小流行の臨床的・ウイルス学的・分枝疫学的解析. *肝臓* 2012; 53: 78—89
- 11) Yano K, Tamada Y, Yatsubashi H, et al. Dynamic epidemiology of acute viral hepatitis in Japan. *Intervirology* 2010; 53: 70—75
- 12) 阿部敏紀, 相川達也, 赤羽賢浩, 他. 本邦に於ける E 型肝炎ウイルス感染の統計学的・疫学的・ウイルス学的特徴: 全国集計 254 例に基づく解析. *肝臓* 2006; 47: 384—391
- 13) 岡本宏明. 新規に保険収載された検査法「IgA-HE 抗体価(定性)」. *モダンメディア* 2012; 58: 12—17
- 14) 菅原伸明, 矢和田敦, 高橋和明, 他. 劇症 E 型肝炎: “Kitami/Abashiri strain” が検出された第 3 例目. *肝臓* 2009; 50: 473—474
- 15) 小川浩司, 梅村真知子. 北海道 E 型肝炎研究会症例報告: 2010 年春に函館地区で発症し, “09 年秋札幌小流行” 起因 new Sapporo strain が分離された E 型肝炎 2 重症例について. 「厚生労働科学研究費補助金(肝炎等克服緊急対策研究事業)経口感染する肝炎ウイルス(A 型, E 型)の感染防止, 遺伝多様性, および治療に関する研究平成 22 年度総括・分担研究報告書」2011, p26—27
- 16) 小川浩司, 山本義也, 梅村真知子. 2010 年函館地区で発症し, 09 年秋札幌小流行起因 “new Sapporo strain” が分離された E 型劇症肝炎の 2 例. *肝臓* 2012; 53: 206—215
- 17) Takahashi K, Okamoto H, Abe N, et al. Virulent strain of hepatitis E virus genotype 3, Japan. *Emerg Infect Dis* 2009; 15: 704—709
- 18) Ishida S, Yoshizaki S, Ikeda T, et al. Detection and molecular characterization of hepatitis E virus in clinical, environmental and putative animal sources. *Arch Virol* 2012; 158: 2363—2368
- 19) Li TC, Miyamura T, Takeda N. Detection of Hepatitis E virus RNA from the bivalve Yamato-Shijimi (*Corbicula japonica*) in Japan. *Am J Trop Med Hyg* 76: 170—172
- 20) 農林水産省; 平成 23 年度都道府県別食物自給率 <http://www.maff.go.jp/index.html>

本論文内容に関連する著者の利益相反: なし

Occurrence of acute hepatitis E virus infection in the Hakodate district: A prospective study of four hospitals in Hakodate City

Machiko Umemura^{1)2)*}, Yutaka Watanabe²⁾, Koji Ogawa³⁾, Yoshiya Yamamoto³⁾, Atsushi Yawata⁴⁾,
Katsuya Einami⁵⁾, Tomokazu Nagasako⁶⁾, Naoyuki Kawamura⁶⁾, Mineo Kudo⁶⁾, Keiji Matsubayashi⁷⁾,
Yoshiyasu Karino⁸⁾⁹⁾, Jong-Hon Kan⁸⁾¹⁰⁾, Hitoshi Mizuo⁸⁾¹¹⁾, Hiroaki Okamoto⁸⁾¹²⁾, Kazuaki Takahashi⁸⁾¹³⁾,
Natsumi Abe⁸⁾¹³⁾, Masahiro Arai⁸⁾¹³⁾, Shunji Mishiro⁸⁾¹³⁾

Clinical presentations, infection routes, and viral genomes were analysed in 14 cases with hepatitis E virus (HEV) infection that occurred in the Hakodate district between 2007 and 2010. Among these, eight cases were diagnosed with HEV infection by the Hokkaido Hepatitis E Research Group and were treated at one of four hospitals in Hakodate City, one case developed an acute HEV infection after dining in Hakodate City, and five cases were diagnosed as HEV-positive during routine screening of blood donors by the Hokkaido Red Cross Blood Center and were referred to hospitals in the Hakodate district. The patients differed in terms of their occupations, meat consumption, and the neighbourhoods in which they lived. Raw shellfish and offal meat were suspected to be the sources of the infections. Viral RNAs were detected in 13 of the cases, and phylogenetic analysis of 326 base pairs of HEV open reading frame 1 (ORF1) revealed that three patients had HEV genotype 3 and the other ten patients had HEV genotype 4. Further phylogenetic analysis of 821 base pairs of ORF1 of HEV genotype 4 revealed that six of nine sequences matched the Kitami Abashiri strain. This strain was identified in a group of people who developed HEV infections between 2004 and 2006 in the Kitami and Abashiri districts. The remaining two sequences matched the New Sapporo strain, which infected a small number of people in Sapporo City in 2009.

Key words: hepatitis E virus fulminant hepatitis phylogenetic analysis New Sapporo strain
Kitami/Abashiri strain

Kanzo 2014; 55: 349—359

-
- 1) Department of Gastroenterology, Kushiro Rosai Hospital
 - 2) Department of Internal Medicine, Hakodate Central General Hospital
 - 3) Department of Gastroenterology, Hakodate Municipal Hospital
 - 4) Department of Gastroenterology, Hakodate Goryoukaku Hospital
 - 5) Department of Gastroenterology, Hakodate Kyokai Hospital
 - 6) Department of Gastroenterology, Sapporo Hokuyu Hospital
 - 7) Hokkaido Red Cross Blood Center
 - 8) Hokkaido Study Group of Hepatitis E
 - 9) Department of Hepatology, Sapporo Kosei General Hospital
 - 10) Center of Gastroenterology, Teine Keijinkai Hospital
 - 11) Department of Internal Medicine, Kin-ikyo Chuo Hospital
 - 12) Division of Virology, Department of Infection and Immunity, Jichi Medical University School of Medicine
 - 13) Department of Medical Sciences, Toshiba General Hospital

*Corresponding author: machiko_ume_17@yahoo.co.jp

<短 報>

三重県北中部で持続発生している E 型肝炎の主たる感染株
(ヨーロッパ型 3e/3sp 株) の県内産豚からの特定岡野 宏^{1)*} 赤地 重宏²⁾ 中野 達徳³⁾ 岡本 宏明⁴⁾

はじめに：我々はこれまで、三重県北中部地域において、本邦では稀な E 型肝炎ウイルス (HEV) ヨーロッパ株 (3e/3sp 型) による急性 E 型肝炎が 2004 年以降持続発生している事を報告してきた^{1)~4)}。イノシシからの感染による猟師例⁴⁾を除き、E 型肝炎例から検出された 3e/3sp 株はいずれも同一クラスターに属し、3e/3sp 株が同地域内で持続的に感染源として存在している事が示唆された。しかしこれら 3e/3sp 株による急性 E 型肝炎の感染経路は不明であり、また同地域で販売されている豚レバー (243 包装) についての HEV 株検索でも 3e/3sp 株は検出されず、感染源の特定は出来なかった³⁾。その後の検索で我々は、三重県北中部地域産の廃棄豚レバーより検出された 3e/3sp 株が、肝炎症例からの 3e/3sp 株と極めて高い相同性があることを認め、一連の急性 E 型肝炎の感染源として三重県産の豚が関与している可能性があり報告する。

対象と方法：2007 年に三重県北中部地域の農場よりと畜場に搬入され、と畜検査にて廃棄となった豚レバーから抽出され凍結保存されていた RNA サンプルを本研究で用いた。具体的には、16 農場からの計 85 個の廃棄豚レバーに由来する RNA である。ORF2 領域の 457 塩基長を増幅しうる RT-PCR 法⁵⁾に供し、陽性検体については両末端のプライマー配列を除く 412 塩基長の配列を決定した。既報の HEV 株と比較検討するとともに分子系統解析を行った。

結果：RT-PCR 法の標的領域は異なるが、2007 年当

時に PCR 陽性と判定されたものと同じ 2 検体 (swJ-Mie07-37L, swJ-Mie07-80L) から HEV RNA が検出され、残りの 83 検体では HEV RNA は陰性であった。ORF2 領域の 412 塩基長の配列に基づく分子系統解析の結果、swJ-Mie07-37L は 3e/3sp 株に属し、swJ-Mie07-80L は 3b/3jp 株に属することが判明した。swJ-Mie07-80L は、三重県内の急性 E 型肝炎例を含め、既報株との比較において一致率が最も高いものでも 93.2% に過ぎなかった。一方、3e/3sp 株に属する swJ-Mie07-37L は、既報の 3e/3sp 株 (三重県 E 型肝炎症例：HE-JA04-1911, HE-JA09-0135, HE-JA09-0195, HE-JA11-0494 および愛媛県症例 JNH-Ehi04L_Ehime) と 99.2% の一致率を、また HE-JA10-1071 と 99.0%、HE-JA10-0841, HE-JA12-0394 と 98.7%、HE-JA12-0752 と 98.5%、HE-JA12-0546, HE-JA12-0647 と 98.3% の高い相同性を示した。分子系統樹を作成したところ、swJ-Mie37L は上記の 3e/3sp 株と同一クラスターを形成することが確認された (Fig. 1)。以上の結果から、2004 年以来三重県北中部地域で発生し続けてきた E 型肝炎の主たる原因ウイルス株 (3e/3sp 株) に非常に近縁な株が県内産豚にも感染していることが分かった。

考察：本邦や欧米で発生している土着 HEV による散发性急性 E 型肝炎は、感染成立から発症までの潜伏期間が 1~2 カ月程度存在することから、大部分の症例で、実際に原因となった食材等の感染源を特定することが困難である。しかし E 型肝炎が人獣共通感染症であることは既に認知された事実であり、豚、イノシシ、鹿などが E 型肝炎の感染源として報告されている。特に豚に関しては、本邦の全国の農場の豚で HEV 感染が蔓延していることが確認されており、豚から検出された HEV 株と本邦の E 型肝炎症例から検出された HEV 株との間に高い相同性が認められることから⁵⁾、輸入感染症や他の獣肉摂取が考えられる事例以外では、本邦における急性 E 型肝炎の感染源として、豚は有力な候補であると考えられる。

- 1) 鈴鹿中央総合病院消化器内科
- 2) 三重県保健環境研究所微生物研究課
- 3) 藤田保健衛生大学七栗サナトリウム内科
- 4) 自治医科大学医学部感染・免疫学講座ウイルス学部門

*Corresponding author: oohh1969@yahoo.co.jp
<受付日2014年5月28日><採択日2014年7月14日>

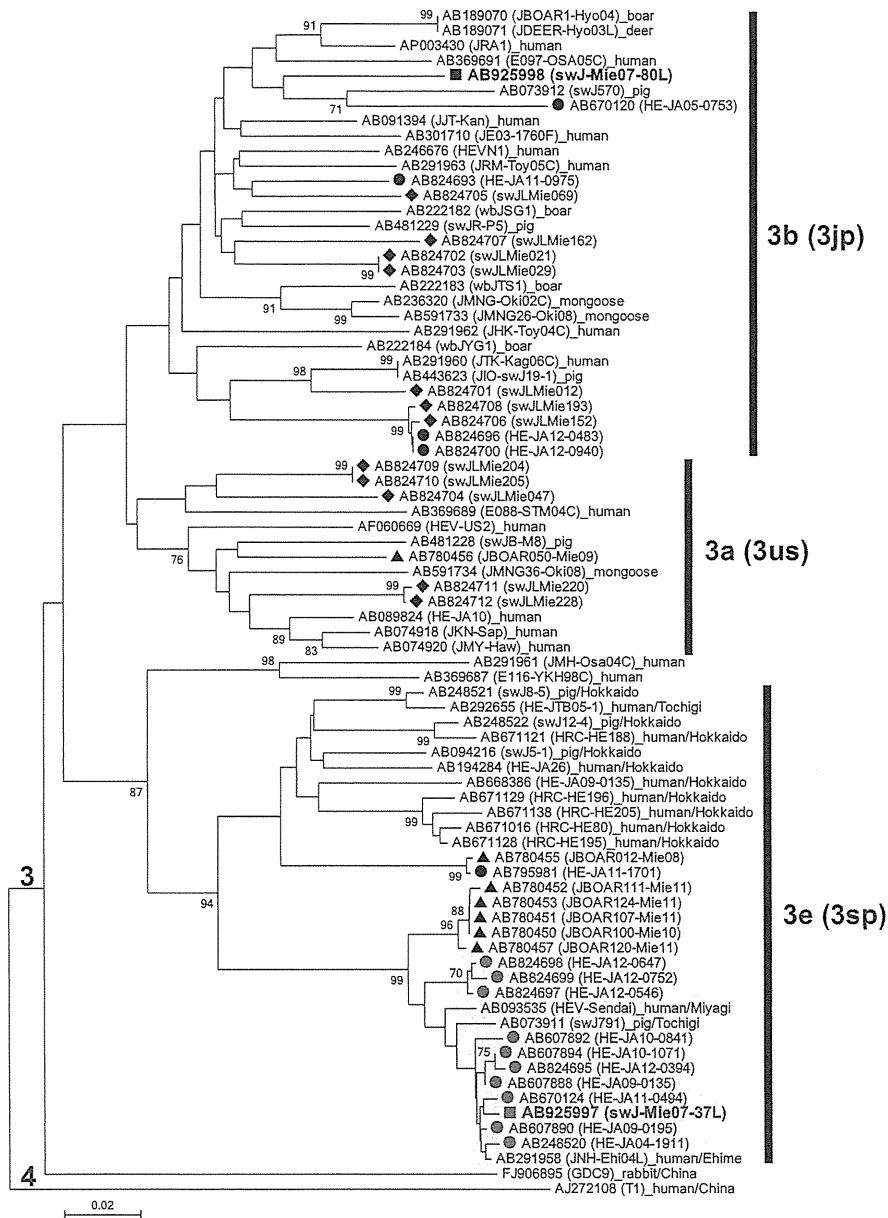


Fig. 1 Neighbor-joining tree of the 412-nucleotide open reading frame 2 sequences of the two swine hepatitis E virus (HEV) strains obtained in the present study and the reported 15 human, 12 swine and 7 wild boar HEV strains in Mie Prefecture (1, 3, 4) as well as 49 reference sequences of genotype 3 and 4. The reference sequences are shown with accession nos., followed by the isolate name, and the name of animal species from which it was isolated. Japan-indigenous genotype 3 isolates are divided into three subgenotypes: 3a (3us), 3b (3jp) and 3e (3sp). The previously reported 15 human, 12 swine and 7 wild boar HEV stains (1, 3, 4) are highlighted with closed circles, closed rhombuses and closed triangles, respectively. The two swine HEV strain obtained in this study are indicated with closed boxes. The bootstrap values are indicated for the nodes as a percentage of the data obtained from 1000 resampling. The scale bar is in units of nucleotide substitutions per site.